

## SOBREPRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD POR UNA CEPA MUTANTE DE *Geobacter sulfurreducens* Y SU RESPUESTA TRANSCRIPTÓMICA

Alberto Hernández Eligio, Bernardo Jaramillo Rodríguez, Leticia Vega Alvarado, Luis Rodríguez Torres, Guillermo Huerta Miranda y Katy Juárez. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, CP 62210 Cuernavaca, Morelos.  
[alberto.hernandez@ibt.unam.mx](mailto:alberto.hernandez@ibt.unam.mx), [katy.juarez@ibt.unam.mx](mailto:katy.juarez@ibt.unam.mx)

*Palabras clave:* Bioelectricidad, celda microbiana de combustible, transcriptoma

**Introducción.** *Geobacter sulfurreducens* es una bacteria que puede acoplar la respiración anaeróbica a la reducción de metales a través de un proceso llamado transferencia extracelular de electrones (TEE) (1). La TEE esta dirigida por un pili conductivo, más de 100 citocromos tipo-c y la formación de biopelículas electroconductoras. Gracias al proceso de TEE, *G. sulfurreducens* es capaz de producir bioelectricidad cuando es crecida en celdas microbianas de combustible (CMC) (1). Nosotros encontramos que el regulador transcripcional GSU1771 controla la expresión de algunos genes que codifican proteínas involucradas directamente en la TEE (2). Además, cuando eliminamos su gen *gsu1771*, la cepa mutante desarrolla biopelículas 100 más electroconductoras que la cepa parental (2). Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron determinar la producción de bioelectricidad en una CMC por la cepa mutante deficiente en *gsu1771* de *G. sulfurreducens* y analizar su respuesta transcriptómica.

**Metodología.** Mediante microscopia confocal laser de barrido (CLSM) y el uso del kit Live/Dead BacLight se realizó un análisis de las biopelículas desarrolladas por la cepa *-gsu1771* sobre electrodos de grafito. Por otro, la producción de bioelectricidad se determinó en CMC de dos cámaras, tipo-H, con un flujo continuo de acetato (20 mM) como donador de electrones y un electrodo de grafito como aceptor de electrones. Al iniciar la corriente, en la cámara anódica se mantuvo un flujo constante de medio fresco. Después de 2 semana se operación, la CMC se detuvo y se aisló la biopelícula crecida sobre el electrodo. A partir de las biopelículas, se aisló el RNAm usando el Kit RNeasy mini kit (Qiagen). El DNA contaminante y el RNA ribosomal se eliminó con una DNaseI y el kit Ribominus (Thermo), respectivamente. Las librerías de cDNA se construyeron usando el kit TruSeq stranded mRNA kit y la secuenciación se realizó en la plataforma NexSeq 500 (Illumina). El análisis de expresión diferencial se realizó usando la plataforma IDEAMEX web server (3).

**Resultados.** El análisis de CLSM mostró que la cepa *-gsu1771* produce una biopelícula gruesa, compuesta por más del 90% de células vivas. Estas biopelículas tienen un grosor similar a las producidas por la cepa parental, y forman estructuras tipo columnas sobre el electrodo. Por otro lado, la cepa *-gsu1771* desarrolló una biopelícula gruesa en el ánodo de la CMC. Después de 2 días de operación de las CMC, ambas cepas empezaron a generar corriente, alcanzando un máximo al 3 día de operación (19  $\mu$ A para la cepa *-gsu1771* y 14  $\mu$ A la cepa parental). La corriente producida por ambas cepas se mantuvo estable durante dos semanas. La producción de bioelectricidad por la cepa *-gsu1771* se incremento entre un 30-35% más que la cepa parental. Después de 2 semanas, a partir de las biopelículas se realizó un análisis de transcriptoma por RNA-seq. 119 genes se encontraron diferencialmente expresados (DE) en la cepa *-gsu1771* (79 sobregulados y 40 subregulados), entre los que destacan genes que participan en la generación de energía y transporte de electrones (20 genes DE), regulación transcripcional (17 genes DE) y transporte (13 genes DE). Entre los genes DE destacan los que codifican proteínas homólogas al sistema de secreción tipo VI (SST6), relacionado con virulencia, actividad antimicrobiana, homeostasis de metales y formación de biopelículas.

**Conclusiones.** La cepa mutante deficiente en *gsu1771* desarrolla biopelículas más gruesas sobre electrodos de grafito, y produce un 30-35% más bioelectricidad que la cepa parental en CMC. El análisis transcripcional mostró que en dicha cepa se encuentran sobre-expresados genes que podrían estar involucradas en la TEE, incluyendo citocromos tipo-c que no han sido descritos previamente. Además, se destaca un posible rol del SST6 en el desarrollo de biopelículas electroconductoras en *G. sulfurreducens*.

**Agradecimiento.** PAPIIT-UNAM No. IN212022, PASPA-UNAM.

### Bibliografía.

1. -Lovley DR, et al. (2011). *Adv Microb Physiol.* 59:1-100.
2. -Hernández-Eligio A, et al. (2022). *Bioelectrochem.* 145, 108101.
3. Jiménez-Jacinto V, et al. (2019). *Front Genet.* 10:279.